

ヒラメ *Paralichthys olivaceus* における DNA 多型に関する研究
-成長ホルモン遺伝子多型とマイクロサテライト DNA 多型について-

分子育種工学研究室 清水 宏美

【目的】

現在、我々の研究室では DNA 多型解析技術を応用して、有用魚種の個体識別を行うことにより、マーカー選抜育種法の開発を試みている。表現型としての成長マーカーは養殖産業的価値において重要であるため、成長の調節に影響する成長ホルモン遺伝子に着目した。体重別グループ間において成長ホルモン遺伝子多型が認められ、遺伝子マーカーとしての利用が可能になれば、マーカー選抜育種の一助となると考えられる。

【材料および方法】

本研究では、実験魚の偽雄を使った雌性発生種苗のヒラメ集団（9 ヶ月齢、体重 43 ± 13 g、549 尾）を体重別に各々 20 尾ずつ 3 グループ、G1(56g 以上)、G2(37~49g)、G3(30g 以下)に分けた。成長ホルモン遺伝子 DNA 多型は、PCR-RFLP 法により検出し、遺伝子型頻度検定の解析を試みた。またヒラメ集団の遺伝的特性を調べるために、マイクロサテライト DNA 多型解析法を用いて各々のグループの遺伝的変異保有量の解析を試みた。

【結果および考察】

マイクロサテライト DNA 多型解析結果より、10 種のマイクロサテライト遺伝子座における平均アリル数、平均ヘテロ接合体率はグループ間に差は認められなかったが、マイクロサテライト遺伝子座ごとに見るとグループに特異的なアリル頻度の特徴が認められた。また得られたヘテロ接合体率(0.733~0.765)は、現在の放流用種苗集団に見られるヘテロ接合体率(0.800~0.900)と比較して低値であった。これらのことから、本研究で供したヒラメ集団は、遺伝的変異性が低い集団であることが明らかになった。

ヒラメ成長ホルモン遺伝子の塩基配列よりデザインされたオリゴヌクレオチドプライマー対を用いて、第一エクソンから第五エクソンを含む約 2,100bp 断片を増幅した。この PCR 増幅産物を *Sau3A* I で切断し、1.5%アガロースゲルおよび 5%ポリリカルブドゲルで電気泳動した。その結果、第一イントロンを含む *Sau3A* I 断片(1,310~1,700bp)において 8 種類のハプロタイプと 12 種類のゲノタイプが検出された。それぞれの頻度を元に各グループにおける発現頻度分布特徴を調べたところ、G3

は G1, G2 に比べて、高頻度の D ハブタイプを示し、G1, G2 とともに E ハブタイプの発現頻度が高かった。またゲノタイプにおいてもその頻度はグループ別に異なっており、G3 は G1, G2 に比べて、高頻度の BD ゲノタイプを示した。

以上のことから、ヒラメ成長ホルモン遺伝子に DNA 多型があること、そして成長ホルモン遺伝子のハブタイプとゲノタイプの種類とその発現頻度の違いが体重別グループで明らかになった。ヒラメの成長ホルモン遺伝子における *Sau3A* I 断片多型のさらなる詳細な構造解析、ならびに RFLP と成長曲線の相関性を明らかにすることにより、マーカー選抜育種の応用に役立つと考えられる。